

Hermansky-Pudlak 综合征基因型和临床表型分析

杨尚英¹ 程婉玉¹ 张焱² 盛迅伦^{1,3}

¹宁夏回族自治区人民医院 宁夏眼科医院, 银川 750001; ²宁夏医科大学科技中心电镜室, 银川 750001; ³甘肃爱尔眼视光医院, 兰州 730000

通信作者: 盛迅伦, Email: shengxunlun@163.com

【摘要】目的 分析 2 个 Hermansky-Pudlak 综合征(HPS)家系的基因型及眼部和全身临床表型。

方法 采用家系调查研究方法, 纳入 2020 年 6 月至 2021 年 5 月在宁夏回族自治区人民医院就诊的中国汉族和回族 HPS 家系各 1 个, 收集先证者及其父母的临床资料, 父母表型均正常; 完善相关眼科及全身检查。采用电子显微镜观察先证者血小板致密颗粒。采集受试者外周静脉血, 提取 DNA, 应用全外显子组测序技术进行致病基因筛查, 通过生物信息学分析得到候选致病变异位点。采用 Sanger 测序进行验证及家系共分离分析, 确定致病性变异位点, 并探讨 HPS 相关基因变异与临床特征的关系。**结果** 家系 1 和家系 2 均符合常染色体隐性遗传模式。家系 1 有近亲结婚家族史, 先证者面部皮肤、头发、眉毛、睫毛均无明显色素减退表现, 双眼水平眼球震颤, 外斜视, 轻度视力损伤, 虹膜萎缩、透光试验阳性, 眼底呈橙色、色素缺失、黄斑发育不良, 实验室检查凝血酶原时间延长, 电子显微镜检查提示血小板致密颗粒大量减少。家系 2 先证者头发、眉毛呈棕黄色, 重度视力损伤, 虹膜色素正常, 实验室检查凝血酶原时间延长, 其余特征与家系 1 先证者相似。全外显子组测序结果显示, 在家系 1 先证者 *HPS3* 基因上检测到 1 个新的纯合变异 c. 2887G>T(p. E963X)。表型正常的父母各携带 1 个 c. 2887G>T(p. E963X) 杂合变异。家系 2 先证者 *HPS5* 基因上检测到复合杂合变异: c. 2952-2A>C 剪接变异和杂合缺失(缺失 3 144 bp, 位于 chr11:18302108-18305251, exon22)。表型正常父母分别携带 1 个杂合变异。3 种变异均为新发变异; 根据美国医学遗传学与基因组学学会遗传变异分类标准与指南, 均为致病变异。**结论** 2 个家系分别为 HPS-3 型和 HPS-5 型, 两型间存在一定的基因型与临床表型对应关系。

【关键词】 Hermansky-Pudlak 综合征; 家系; 基因检测; 全外显子组测序; 基因型; 表现型; *HPS3* 基因; *HPS5* 基因

基金项目: 国家自然科学基金项目(81760180); 宁夏自治区重点研发项目(2021BEG02045)

DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-20210728-00430

Genotypes and clinical phenotypes of Hermansky-Pudlak syndrome

Yang Shangying¹, Cheng Wanyu¹, Zhang Yan², Sheng Xunlun^{1,3}

¹Ningxia Eye Hospital, People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region, Yinchuan 750001, China; ²Electron Microscope Room, Science and Technology Center, Ningxia Medical University, Yinchuan 750001, China; ³Gansu Aier Optometry Hospital, Lanzhou 730000, China

Corresponding author: Sheng Xunlun, Email: shengxunlun@163.com

【Abstract】Objective To analyze the genotypes and clinical phenotypes of two families with Hermansky-Pudlak syndrome (HPS). **Methods** The method of pedigree investigation was adopted. A Han Chinese HPS family and a Hui Chinese HPS family were enrolled in People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region from June 2020 to May 2021. Clinical data of two probands and their phenotypically normal parents were collected. Relevant ocular and systemic examinations were carried out. Platelet dense granules in the two probands were observed with an electron microscope. DNA was extracted from peripheral venous blood collected from the subjects. The pathogenic genes were screened by whole exome sequencing. The potential disease-causing variations were analyzed by bioinformatics analysis. Validation and family cosegregation analysis of the pathogenic variations were performed by Sanger sequencing. The relationship between HPS-related gene variations and clinical characteristics was explored. This study adhered to the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by the Ethics Committee of Ningxia Eye Hospital, People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region (No. 2016018). Written informed consent was obtained from each subject or custodian before any medical examination. **Results** The two families were consistent with autosomal recessive inheritance pattern. In family 1 with a family history of consanguineous marriage, the proband had no obvious hypopigmentation on his facial skin, hair, eyebrows and eyelashes. Horizontal nystagmus, exotropia, mild visual impairment, iris atrophy, positive light transmission, orange fundus, pigment loss, macular hypoplasia,

prolonged prothrombin time in laboratory examination, and a significant reduction of platelet dense granules by electron microscopy were observed. The proband in family 2 had pale brown hair and eyebrows, severe visual impairment, normal iris pigment, longer thrombin time in laboratory tests, and characteristics similar to those of the proband in family 1. A novel homozygous variant c. 2887G>T (p. E963X) was detected in the *HPS3* gene of the proband in family 1. The parents of the proband from family 1 both carried a heterozygous variant c. 2887G>T (p. E963X). Compound heterozygous variants were detected in *HPS5* gene of the proband in family 2, c. 2952-2A>C splicing variation and heterozygous deletion (a 3 144-bp deletion, located in chr11: 18302108-18305251, exon 22). The parents of the proband from family 2 carried a heterozygous variation. The three novel variations were labeled as pathogenic according to the ACMG standards and guidelines. **Conclusions** Family 1 is with HPS-3 and family 2 is with HPS-5. There is a certain genotype-phenotype correspondence in the two types of HPS.

[Key words] Hermansky-Pudlak syndrome; Pedigree; Genetic testing; Whole exome sequencing; Genotype; Phenotype; *HPS3* gene; *HPS5* gene

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81760180); Key R & D project of Ningxia Autonomous Region (2021BEG02045)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20210728-00430

Hermansky-Pudlak 综合征 (Hermansky-Pudlak syndrome, HPS) (MIM 203300) 是白化病综合征中的一种, 呈常染色体隐性遗传, 具有明显的遗传和临床表型异质性。HPS 具有 11 种亚型, 分别为 HPS-1~11, 其中 HPS-1 和 HPS-3 为常见亚型, HPS-5 较少见^[1-3]。HPS 临床表现多样, 以眼皮肤白化病 (oculocutaneous albinism, OCA)、出血倾向和组织内蜡样脂质聚积三联征为主要特征, 伴或不伴致命性并发症, 如肺纤维化、肉芽肿性结肠炎、肾衰竭及心肌病等。这些特征是由于溶酶体相关细胞器的缺陷, 如黑素细胞中的黑素小体和血小板中的血小板致密颗粒缺乏或大量减少所致。目前, 人类基因突变数据库 (Human Gene Mutation Database, HGMD) 已收录二百余种 *HPS* 基因变异。不同 *HPS* 基因编码的蛋白属于不同的复合体, 具有不同的作用机制; 而影响同一细胞器生物合成复合体 (biogenesis of lysosome-related organelles complex, BLOC) 或衔接蛋白-3 复合体 (adaptor complex-3, AP-3) 的不同亚型往往具有相似临床表型, 且不同亚型严重程度和临床表型不一, 这为临床医生的鉴别诊断带来极大挑战。本研究采用全外显子组测序技术对 2 个 HPS 家系的致病基因进行筛查, 并结合既往报道对 HPS 相关眼病的基因型及临床表型特点进行分析, 分析总结此类疾病基因型与表型的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用家系调查研究方法, 纳入 2020 年 6 月至 2021 年 5 月在宁夏回族自治区人民医院就诊的中国汉族和回族 HPS 家系各 1 个, 收集先证者及其父母的临床资料。本研究遵循《赫尔辛基宣言》, 研究方案经宁夏回族自治区人民医院伦理医学委员会批准 (批文号:

2016018), 所有基因检测及诊断工作均取得患者及家属的同意并自愿签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 家系成员临床检查 完善先证者及其父母的相关临床检查, 包括面部外观照片、最佳矫正视力 (best corrected visual acuity, BCVA)、裂隙灯显微镜、色觉、彩色眼底照相 (TRC-NW300, 日本 Topcon 公司)、光相干断层扫描 (optical coherence tomography, OCT) (HD-OCT4000, 美国 Carl Zeiss Meditec 公司)、视网膜电图 (electroretinogram, ERG)、视觉诱发电位 (visual evoked potential, VEP) 和荧光素眼底血管造影 (fluorescein fundus angiography, FFA) 检查, 并进行实验室凝血功能及肺部 CT 检查。

1.2.2 电子显微镜下观察先证者血小板致密颗粒 采用含有枸橼酸钠和葡萄糖溶液的采血管采集受试者外周静脉血 4 ml; 离心半径 12 cm, 1 500 r/min 离心 10 min, 静置后得到富含血浆的血小板, 包埋法获取血小板切片; 采用透照法观察血小板和血小板致密颗粒形态变化。电子显微镜下观察发现血小板致密颗粒缺乏或大量减少是诊断 HPS 的金标准^[4]。

1.2.3 家系成员全外显子组测序 先证者及其父母同时进行全外显子组测序 (Trio 全外显子组测序模式)。采用 Agilent SureSelect 外显子捕获试剂盒进行全基因组外显子捕获, 采用高通量测序仪 (美国 Illumina 公司) 进行测序。采用 Illumina basecalling Software 1.7 分析软件对原始测序数据进行处理, 并与 NCBI 人类基因组 DNA 参照序列 (NCBI build 37.1) 进行比对, 采用 SOAP 软件 (<http://soap.genomics.org.cn>) 分析得到单核苷酸变异相关信息, 采用 BWA 软件 (<http://bio-bwa.sourceforge.net/>) 分析得到插入/缺失变异相关信息。根据测序深度、测得变异 reads 数与

该位点总 reads 数的比例、是否在高 GC 区域、是否在重复序列区域、是否在 poly 区域等对测序数据进行质控;并明确表型基因是否共分离;对 1KG、gnomAD 等数据库频率进行筛选,利用超过 20 种生物信息学软件预测,从而判别变异所在基因与疾病的关系。经过逐步过滤,筛选出家系内所有患者共享的变异数,再过滤家系无患病亲属存在的变异,最后进行变异注释及危害预测,获得候选致病基因变异。对可疑致病变异进行 Sanger 验证及共分离分析,并对缺失变异补充 PCR 检测。

1.2.4 基因变异致病性分析 利用 HGMD、dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>) 等数据库查询目标变异位点,在 HGMD 中查看是否为已报道的致病变异以及是否已被收录。如果是未报道过的新变异,依据 2015 年美国医学遗传学与基因组学学会 (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) 发布的《序列变异解读标准和指南》对新发变异进行致病性评估。采用在线工具 LRT (<https://acronyms.thefreedictionary.com/Likelihood%20ratio%20test>) 进行致病性预测。选用 1000 Genome (<http://browser.1000genomes.org/index.html>)、EVS (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>) 和 ExAC (<http://exac.broadinstitute.org/>) 数据库,查看变异在正常人群中的等位基因频率。

2 结果

2.1 2 个 HPS 家系先证者临床表型

家系 1 中先证者父母近亲结婚。先证者,男,21 岁,双眼外斜、视力差、畏光 10 余年,其面部皮肤、头发、眉毛、睫毛均无明显色素减退表现。双眼 BCVA 均为 0.3 (右眼: -1.50 DS/ -2.00 DC $\times 25^\circ$;左眼: -1.75 DS/ -2.75 DC $\times 155^\circ$),外斜 -15° ,水平眼球震颤,红绿色觉正常。双眼虹膜萎缩,透光试验阳性,余眼前节检查未见异常;双眼眼底呈橙色,色素缺失,可透见脉络膜大血管,OCT 提示双眼黄斑中心凹发育不良(图 1)。凝血功能检查仅凝血酶原时间轻微延长,为 14.00 s。肺部 CT 检查未见明显异常。

家系 2,先证者,男,4 岁,其头发、眉毛呈棕黄色,全身皮肤颜色正常,双膝部可见少量淤青。双眼

BCVA 均为 0.04 (右眼: -4.00 DS/ -5.00 DC $\times 5^\circ$;左眼: -3.00 DS/ 4.00 DC $\times 85^\circ$),色觉检查无法配合,双眼前节正常,眼底表现与家系 1 先证者相似(图 2)。

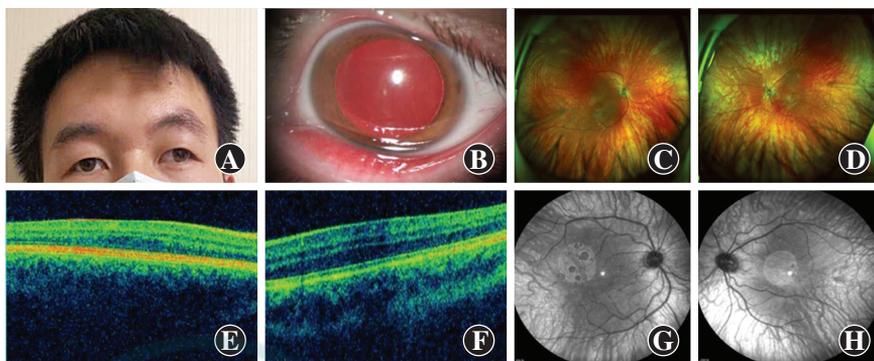


图 1 家系 1 先证者 (HPS-3 型) 临床资料 A:患者毛发、皮肤未见明显色素减退表现 B:左眼眼前节照相可见虹膜透光试验阳性 C、D:眼底照相可见双眼眼底色素缺失 E、F:双眼黄斑区 OCT 检查未见黄斑中心凹结构 G、H:荧光素眼底血管造影可见双眼弥漫性视网膜色素上皮层萎缩和脉络膜毛细血管萎缩,透见稀疏的脉络膜大血管 C、E、G 示右眼,D、F、H 示左眼
Figure 1 Clinical data of proband with HPS-3 in family 1 A:No obvious depigmentation was observed in hair and skin B:Positive light transmission was found in the iris in anterior segment image of left eye C,D:Pigment deficiency was seen in both eyes E,F:Foveal structure was not found in both eyes in macular OCT images G,H:Diffuse retinal pigment epithelium atrophy, choriocapillary atrophy and visible sparse choroidal macrovasculature were detected in both eyes in fluorescein fundus angiography images C,E,G:right eye;D,F,H:left eye

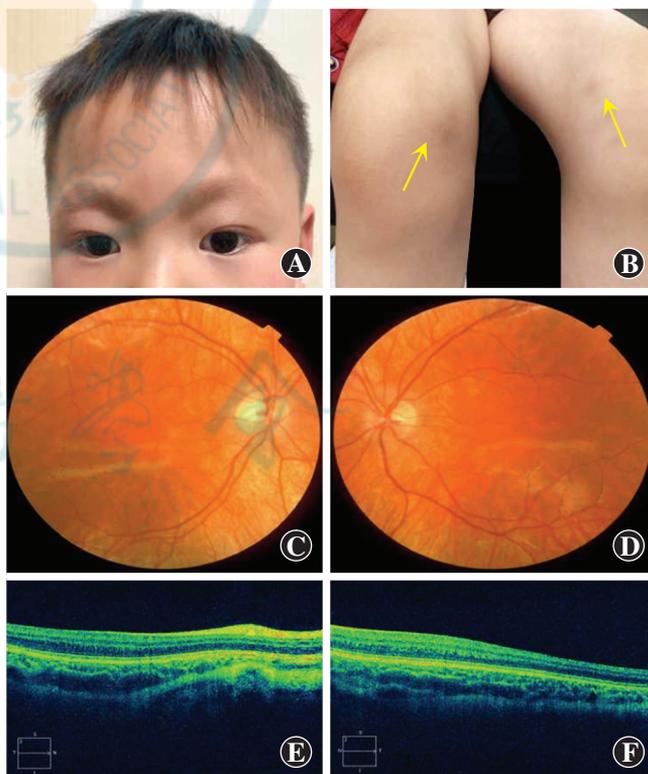


图 2 家系 2 先证者 (HPS-5 型) 临床资料 A:患者毛发、皮肤呈棕黄色 B:双膝可见少量淤青(箭头) C、D:眼底照相可见双眼眼底色素缺失 E、F:双眼黄斑 OCT 检查未见黄斑中心凹结构 C、E 示右眼,D、F 示左眼

Figure 2 Clinical data of proband with HPS-5 in family 2 A:The hair and skin were brown yellow B:A small amount of bruises (arrow) were seen in both knees C,D:Pigment deficiency was seen in both eyes in fundus images E,F:Foveal structure was not found in both eyes in macular OCT images C,E:right eye;D,F:left eye

凝血功能检查仅凝血酶时间轻微延长,为 19.90 s。肺部 CT 检查未见明显异常。

2.2 2 个 HPS 家系先证者血小板致密颗粒形态学变化

电子显微镜下观察可见,家系 1 和家系 2 先证者均表现为血小板致密颗粒大量减少(图 3)。

2.3 全外显子测序及生物信息学分析

家系 1 先证者 *HPS3* 基因第 16 外显子上检测到 c. 2887G>T (p. E963X) 新纯合无义变异,表型正常的父母均携带 c. 2887G>T (p. E963X) 杂合变异,提示基因型与临床表型共分离。该家系符合常染色体隐性遗传方式。结合患者临床表型,初步诊断为 HPS-3 型(图 4)。家系 2 先证者 *HPS5* 基因上检测到复合杂合变异:c. 2952-2A>C 剪接变异和杂合缺失(缺失 3 144 bp,位于 chr11:18302108-18305251, exon22)。表型正常的父母分别携带 1 个杂合变异。Sanger 测序验证剪接位点变异来源于父亲,缺失变异来源于母亲,符合常染色体隐性遗传方式,结合患者临床表型,初步诊断为 HPS-5 型(图 5)。

2 个家系确定的 3 种变异在 HGMD 均未收录,为新发变异。家系 1 先证者 *HPS3* 基因 c. 2887G>T 变异导致多肽链提前终止合成,所产生的蛋白质大多失去活性或丧失正常功能(PVS1)。氨基酸保守性分析发现,*HPS3* 基因翻译的氨基酸序列第 963 位谷氨酸高度保守(图 4),改变后的氨基酸会导致蛋白结构功能变化而致病。变异与疾病在家系中共分离(PP1_Supporting)。变异在千人数据库和东亚人群数据库(ExAC_EAS)中未见报道(PM2_Supporting)。经过 LRT 和 variant Taster 软件预测,分别为有害变异和可能有害,具有致病性。根据 ACMG 指南,确定该变异为致病变异。

家系 2 先证者携带 *HPS5* 基因复合杂合变异 c. 2952-2A>C 剪接变异和 11 号染色体杂合缺失(缺失 3 144 bp,位于 chr11:18302108-18305251,外显子 22,PM2_Supporting)。c. 2952-2A>C 变异位于经典剪切区域,破坏了“GT-AG”剪切结构,推断会造成剪切异常,影响蛋白编码(PVS1)。2 个变异在千人数据库和东亚人群数据库(ExAC_EAS)中均未见报道(PM2_Supporting)。变异与疾病在家系中共分离(PP1_Supporting)。根据 ACMG 指南,该变异判定为致病变异。



图 3 2 个 HPS 家系先证者血小板致密颗粒形态学变化($\times 3\ 000$, 标尺 = 2 μm) A:正常对照(正常无眼病青少年)血小板中可见致密颗粒(箭头) B:家系 1 先证者(HPS-3)血小板中致密颗粒大量减少 C:家系 2 先证者(HPS-5)血小板中致密颗粒大量减少

Figure 3 Morphological changes of platelet dense granules in probands of two HPS families ($\times 3\ 000$, bar = 2 μm) A:Platelet dense granules (arrows) were observed in normal adolescents without eye disease B:Platelet dense granules were greatly reduced in the proband of family 1 with HPS-3 C:Platelet dense granules were greatly reduced in the proband of family 2 with HPS-5

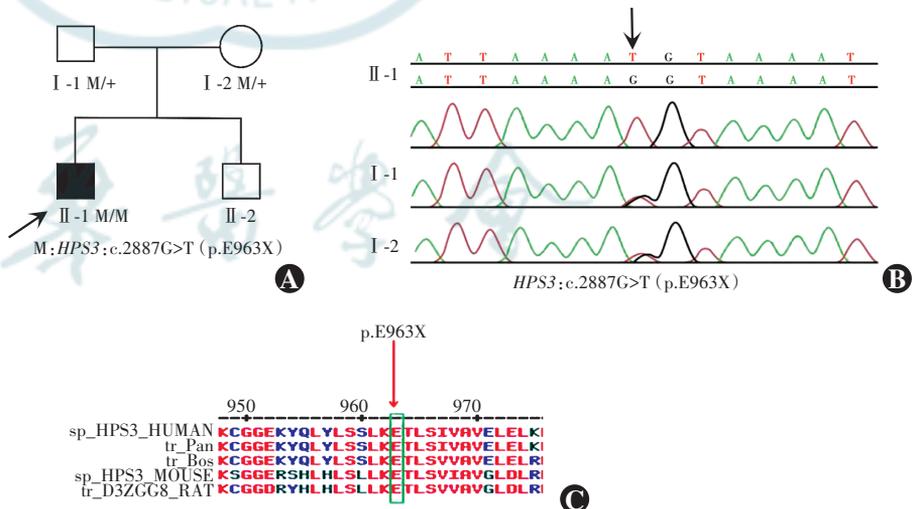


图 4 家系 1 家系图及 *HPS3* 基因测序图 A:家系图 □:正常男性;○:正常女性;■:男性患者;↗:先证者 B:*HPS3* 基因测序图 先证者携带 c. 2887G>T (p. E963X) 纯合变异,父母各携带 1 个杂合变异 C:变异位点的氨基酸序列与多个物种的同源蛋白序列对比 963 位氨基酸 E 属于高度保守序列

Figure 4 Pedigree and sequence analysis of proband with HPS-3 in family 1 A:Pedigree of family 1 □: normal male; ○: normal female; ■: affected male; ↗: proband B: Sequence chromatograms of *HPS3* The proband II-1 carried a homozygous variant of c. 2887G>T (p. E963X), and the proband's parents both carried a heterozygous variant C: The homology of amino acid sequences between human and other species The amino acid at position 963 (within box) was highly conserved among species

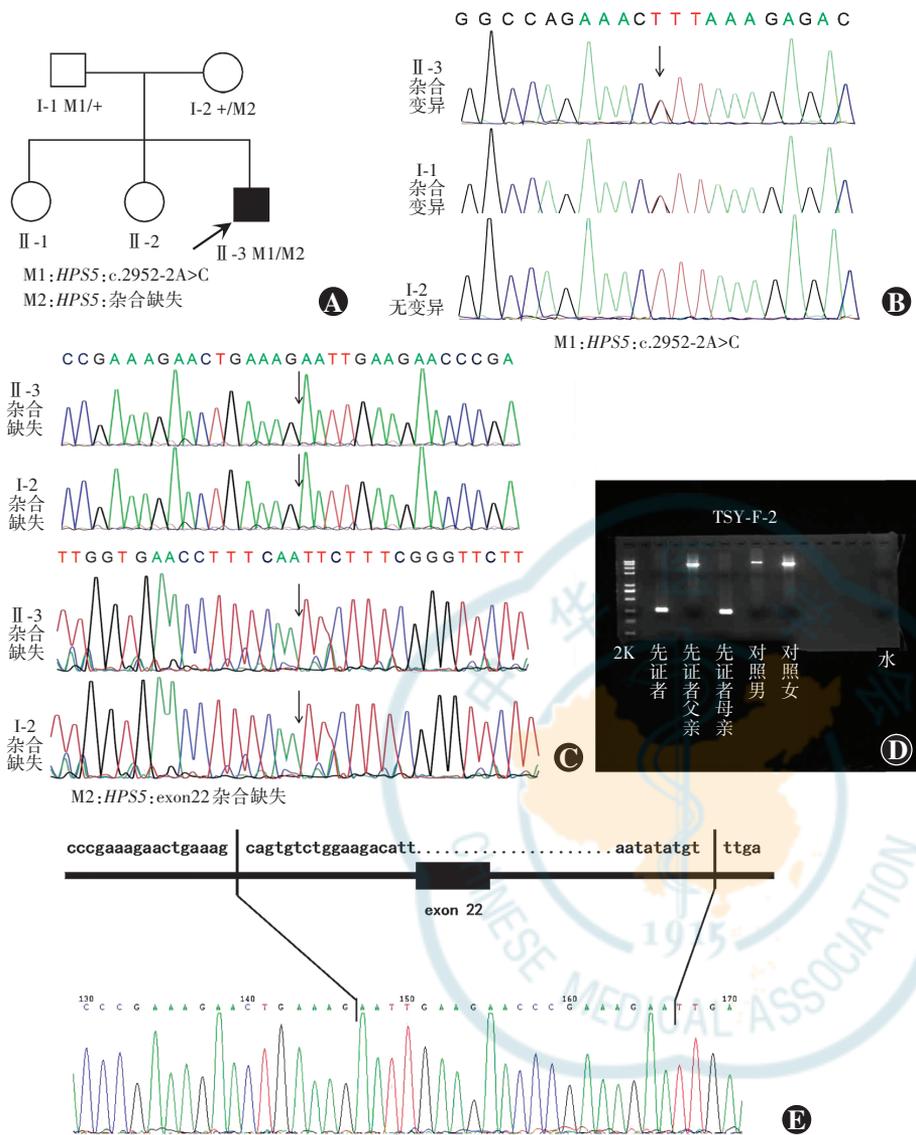


图 5 家系 2 家系图及 HPS5 基因测序图 A: 家系图 □: 正常男性; ○: 正常女性; ■: 男性患者; ⚡: 先证者 B、C: HPS5 基因测序图 先证者 II-3 携带复合杂合变异, M1: c. 2952-2A>C 剪接变异和 M2: 缺失 3 144 bp (包含外显子和内含子); 先证者父亲 I-1 携带 M1 杂合变异, 先证者母亲 I-2 携带 M2 杂合变异 D: PCR 电泳图 短片段代表 HPS5 基因第 22 外显子的缺失, 长片段代表野生型 E: 断裂点图 断裂点染色体位置 chr11:18302106 和 chr11:18305252, 在缺失的 146~166 间插入了约 20 bp

Figure 5 Pedigree and sequence analysis of proband with HPS-5 in family 2 A: Pedigree of family 2 □: normal male; ○: normal female; ■: affected male; ⚡: proband B, C: Sequence chromatograms of HPS5 The proband II-3 carried a compound heterozygous variation, M1: c. 2952-2A>C and M2: a 3 144-bp deletion (including exons and introns). The proband's father I-1 carried the M1 heterozygous variation and the proband's mother I-2 carried the M2 heterozygous variation D: PCR electropherogram The short segment represented the deletion of exon 22 in HPS5 gene, and the long segment represented the wild type E: Breakpoint pattern Breakpoints on chromosome positions chr11: 18302106 and chr11:18305252, and about 20 bp was inserted between deleted 146 and 166

3 讨论

HPS3 基因 (NCBI RefSeq: NM_032383) 定位于 3q24, 包含 17 个外显子, 编码的 HPS3 蛋白包含 1 004 个氨基酸。HGMD 中已报道 39 种 HPS3 基因变异, 变异类型包括移码、重复、无义和错义变异^[5]。HPS5 基

因 (NCBI RefSeq: NM_181507) 定位于 11p15.1, 包括 23 个外显子, 编码含 1 129 个氨基酸的 HPS5 蛋白。HGMD 中已报道 37 种 HPS5 基因变异, 其中大部分是移码变异和错义变异^[6-7]。HPS-5 型发病相对少见, 目前国内仅见 2 例报道, 在 HPS5 基因上发现 4 种变异^[7-8]。本研究在 2 个 HPS 家系中确定了 3 种新发变异。家系 1 为纯合无义变异 (父母近亲结婚), 家系 2 为剪接位点和杂合缺失的复合杂合变异。以上 3 个新发变异 HGMD 尚未收录, 在正常人群数据库中的频率为 0, 软件预测结果表明为有害变异, ACMG 遗传变异分类标准与指南评为致病变异。

HPS 是一种罕见的异源染色体隐性遗传疾病, 以溶酶体和溶酶体相关细胞器的异常为特征。HPS 以眼皮白化病和出血倾向为特征, 同时伴有全身各系统、器官的并发症。不同 HPS 亚型色素减退程度不同, 如 HPS-1 型患者的毛发和皮肤颜色可随年龄增长而逐渐加深, HPS-3 型患者的毛发和皮肤颜色可正常或表现为轻度色素减退。本研究中家系 1 先证者为 HPS-3 型, 其头发、眉毛及皮肤颜色无明显色素减退表现。患者诉年幼时毛发呈棕黄色, 随年龄增长头发颜色有所加深, 而皮肤颜色未见明显改变。HPS-1 型患者随年龄增长色素加深的情况是否也会出现于 HPS-3 型患者还有待进一步研究证实。Tsilou 等^[9]报道, HPS-3 型患者相对

HPS-1 型而言, 眼部临床表现较轻。本研究家系 1 先证者眼部及全身临床表现均较轻, 既无严重的视力损伤, 也无致命性的肺纤维化。HPS 患者常伴有轻中度红绿色觉异常, 但本研究中 HPS-3 型先证者色觉正常。Jardón 等^[1]报道 64 例 HPS 患者中, HPS-3 型患者 BCVA 优于 HPS-1 型, 外斜视在 HPS-3 型患者中更常

见,而内斜视在 HPS-1 型患者中更常见。本研究家系 1 先证者表现符合外斜视。出血倾向是各型 HPS 患者的常见表型之一,多表现为皮下瘀血或皮肤易瘀青,严重出血可能发生于拔牙、手术或大的创伤后,女性患者可能伴月经量过多或产后出血,因此避免外伤及手术前做好相应止血措施,预防可能出现的大出血对 HPS 患者至关重要^[10]。本研究 2 位先证者均具有出血倾向,这是由于血小板致密颗粒缺乏或大量减少导致血小板贮存池缺陷所致。血小板致密颗粒是一种溶酶体相关细胞器,富含 H^+ 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 等。血小板受到刺激活化后,血小板致密颗粒能够快速释放其内容物,如二磷酸腺苷酸等,使血小板聚集反应加强,还可引起血小板第二相聚集反应,从而促进凝血、血栓形成等多种生理学反应。近来, Yuan 等^[11] 在研究中筛选到一种定位于血小板致密颗粒的锌离子转运蛋白 TMEM163,小鼠缺失 TMEM163 会导致血小板致密颗粒内 Zn^{2+} 的贮积和生物发生缺陷,并且 TMEM163 在 BLOC-1、BLOC-2 以及 AP-3 缺陷小鼠及 HPS 患者中均显著降低,表明这些复合体可能参与 TMEM163 运输到血小板致密颗粒的过程。不论是这些复合体,还是 TMEM163 本身的缺乏,都将导致血小板致密颗粒的发生缺陷,从而导致凝血功能障碍。这一发现揭示了血小板致密颗粒缺陷、血小板贮存池病和 HPS 中血小板致密颗粒缺乏的关键分子机制。本研究采用电子显微镜观察 2 个 HPS 家系先证者血小板,均发现血小板致密颗粒大量减少,获得了明确的确诊依据。此外,文献报道,HPS 患者合并的肺纤维化显示出特发性肺纤维化的许多临床、放射学和组织学特征,且发病年龄轻,第 1 个发病高峰为 20~25 岁,高分辨率 CT 是诊断肺纤维化的金标准^[2,12]。本研究中 HPS-3 型先证者未能行高分辨率 CT 检查,肺部 CT 检查提示双肺未见活动性病变,后续我们将继续对该患者进行随访,密切观察疾病的进展并预防并发症。不同 HPS 基因编码的蛋白属于不同的复合体,具有不同的作用机制;而影响同一 BLOC 或 AP-3 的不同亚型往往具有相似的临床表型。Di Pietro^[13] 等的研究也证实,HPS-3、HPS-5 和 HPS-6 型的发病机制具有共同的生物学基础。例如,本研究中家系 2 先证者为 HPS-5 型,与 HPS-3 型具有较多相同的临床表型,如水平眼球震颤、外斜视、眼底色素缺失和黄斑中心凹发育不良,肺部 CT 均正常,血小板致密颗粒大量减少,凝血功能基本正常。同时也存在一些差异,如家系 2 先证者头发、眉毛颜色相对家系 1 患者有色素减退表现,而虹膜色素正常,视力损伤也较重。而不同 HPS 亚型患者之间的临床表型具有明显的异

质性,如 HPS-3、HPS-5 型患者的主要特征是眼白化病 (ocular albinism, OA) 或 OCA,同时伴有全身各系统的并发症,如出血倾向、肉芽肿性结肠炎等^[14]。迄今为止,国内外尚无关于 HPS-3 和 HPS-5 型肺纤维化的报道。肺纤维化是 HPS-1 和 HPS-4 型患者常见的并发症,主要表现为肺实质及肺间质进行性不可逆性纤维化,最终可因呼吸衰竭而死亡。HPS-2 型患者的常见并发症为中性粒细胞减少所致的反复感染,典型的临床表现是慢性粒细胞缺乏症。此外,属于不同复合体的各亚型并发症的严重程度亦有明显不同,如 HPS-3、HPS-5 和 HPS-6 型患者症状较轻,HPS-7、HPS-8 和 HPS-9 患者症状较重,HPS-1 和 HPS-4 患者症状严重程度中等^[14]。

基因检测是确诊 HPS 的重要技术手段,利用基因诊断技术明确 HPS 亚型将有利于临床医师减少误诊的发生,积极干预患者潜在并发症。本研究中家系 1 先证者经临床检查及基因检测确诊为 HPS-3 型,在止血措施完备的情况下,顺利为家系 1 先证者进行了双眼斜视矫正手术;家系 2 先证者既往误诊为 OCA,通过全外显子组测序,明确了家系 2 先证者为 HPS-5 型患者。

综上所述,本研究中家系 1 和家系 3 分别为 HPS-3 型和 HPS-5 型,两型之间存在一定的基因型和表型对应关系。全外显子组测序技术可以快速、准确地筛查 HPS 候选基因,明确临床亚型,有利于临床医师对 HPS 的早期诊断和对潜在并发症的精准干预。对于 HPS 患者而言,目前仍缺乏大样本量的系统研究,各亚型临床表型具有高度异质性,尚缺乏统一客观量化的评判标准。例如,眼底和毛发、皮肤色素缺乏程度的判断有一定主观性,且部分亚型患者的毛发颜色随年龄增长而发生变化;评估黄斑发育情况的 OCT 检查,部分患者年龄小无法配合或因缺乏固视能力无法采集;部分病例易误诊为 OA 或 OCA 等。因此,如何完善 HPS 临床表型的相关检查、制定客观量化的评判标准,如何通过基因检测手段提高诊断率是 HPS 研究的重要方向。建议对于 OA 和 OCA 患者常规行 HPS 基因筛查,评估出血风险及全身各器官、系统的情况,并尽可能行全外显子组测序,注意与 HPS 的鉴别诊断,以避免 HPS 的漏诊或误诊。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 杨尚英:病例采集、文章撰写及修改;程婉玉:收集数据、分析数据;张焱:完成电子显微镜检查并提供影像资料;盛迅伦:负责研究设计、文章智力性内容的修改及定稿

志谢 感谢北京同仁医院李杨教授、首都医科大学附属北京儿童医院袁业锋教授提供的电子显微镜实验方法和相关操作技巧

参考文献

- [1] Jardón J, Izquierdo NJ, Renta JY, et al. Ocular findings in patients with the Hermansky-Pudlak syndrome (types 1 and 3) [J]. *Ophthalmic Genet*, 2016, 37(1): 89-94. DOI: 10.3109/13816810.2014.907920.
- [2] El-Chemaly S, Young LR. Hermansky-Pudlak syndrome [J]. *Clin Chest Med*, 2016, 37(3): 505-511. DOI: 10.1016/j.ccm.2016.04.012.
- [3] Liu T, Yuan Y, Bai D, et al. Genetic variants and mutational spectrum of Chinese Hermansky-Pudlak syndrome patients [J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2021, 34(1): 111-121. DOI: 10.1111/pcmr.12916.
- [4] Wei AH, Li W. Hermansky-Pudlak syndrome: pigmentary and non-pigmentary defects and their pathogenesis [J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2013, 26(2): 176-192. DOI: 10.1111/pcmr.12051.
- [5] Saito S, Tanaka R, Sasaki T, et al. Subclinical hypopigmentation of the skin and hair in a Japanese patient with Hermansky-Pudlak syndrome type 3 [J/OL]. *J Dermatol*, 2020, 47(1): e18-e20 [2022-04-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31621111/>. DOI: 10.1111/1346-8138.15118.
- [6] Botero JP, Chen D, Majerus JA, et al. Hermansky-Pudlak syndrome subtype 5 (HPS-5) novel mutation in a 65 year-old with oculocutaneous hypopigmentation and mild bleeding diathesis: the importance of recognizing a subtle phenotype [J]. *Platelets*, 2018, 29(1): 91-94. DOI: 10.1080/09537104.2017.1361019.
- [7] Wei A, Yuan Y, Bai D, et al. NGS-based 100-gene panel of hypopigmentation identifies mutations in Chinese Hermansky-Pudlak syndrome patients [J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2016, 29(6): 702-706. DOI: 10.1111/pcmr.12534.
- [8] Wei A, Yuan Y, Qi Z, et al. Instability of BLOC-2 and BLOC-3 in Chinese patients with Hermansky-Pudlak syndrome [J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2019, 32(3): 373-380. DOI: 10.1111/pcmr.12748.
- [9] Tsilou ET, Rubin BI, Reed GF, et al. Milder ocular findings in Hermansky-Pudlak syndrome type 3 compared with Hermansky-Pudlak syndrome type 1 [J]. *Ophthalmology*, 2004, 111(8): 1599-1603. DOI: 10.1016/j.ophtha.2003.12.058.
- [10] Power B, Ferreira CR, Chen D, et al. Hermansky-Pudlak syndrome and oculocutaneous albinism in Chinese children with pigmentation defects and easy bruising [J/OL]. *Orphanet J Rare Dis*, 2019, 14(1): 52 [2022-04-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30791930/>. DOI: 10.1186/s13023-019-1023-7.
- [11] Yuan Y, Liu T, Huang X, et al. A zinc transporter, transmembrane protein 163, is critical for the biogenesis of platelet dense granules [J]. *Blood*, 2021, 137(13): 1804-1817. DOI: 10.1182/blood.2020007389.
- [12] Lecchi A, La Marca S, Femia EA, et al. Novel variant in *HPS3* gene in a patient with Hermansky Pudlak syndrome (HPS) type 3 [J]. *Platelets*, 2020, 31(7): 960-963. DOI: 10.1080/09537104.2019.1704716.
- [13] Di Pietro SM, Falcón-Pérez JM, Dell'Angelica EC. Characterization of BLOC-2, a complex containing the Hermansky-Pudlak syndrome proteins HPS3, HPS5 and HPS6 [J]. *Traffic*, 2004, 5(4): 276-283. DOI: 10.1111/j.1600-0854.2004.0171.x.
- [14] 刘腾, 魏爱华. Hermansky-Pudlak 综合征研究进展 [J]. *皮肤科学通报*, 2020, 37(1): 53-59.
- Liu T, Wei AH. Advances in Hermansky-Pudlak syndrome [J]. *Dermatol Bull*, 2020, 37(1): 53-59.

(收稿日期: 2022-04-10 修回日期: 2022-09-05)

(本文编辑: 刘艳 施晓萌)

· 病例报告 ·

慢性移植物抗宿主病致重症眼表损伤 3 例

丛林¹ 夏一萍² 董燕玲¹ 程钧¹¹山东第一医科大学附属青岛眼科医院 山东第一医科大学附属眼科研究所
山东省眼科学重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 青岛 266071;²青岛市中医医院 青岛市海慈医院眼科, 青岛 266033

通信作者: 程钧, Email: alicc.567@163.com

Severe ocular damage caused by chronic graft-versus-host disease: three cases report

Cong Lin¹, Xia Yiping², Dong Yanling¹, Cheng Jun¹¹Qingdao Eye Hospital of Shandong First Medical University, State Key Laboratory Cultivation Base,
Shandong Provincial Key Laboratory of Ophthalmology, Eye Institute of Shandong First Medical University, Qingdao 266071, China;²Department of Ophthalmology, Qingdao TCM Hospital, Qingdao Hiser Hospital, Qingdao 266033, China

Corresponding author: Cheng Jun, Email: alicc.567@163.com

DOI: 10.3760/ema.j.cn115989-20210107-00015

例 1, 患者, 男, 48 岁, 因左眼反复发红、磨痛、视力下降 2 个月及热泪溢感 4 d 于 2017 年 1 月 13 日在山东第一医科大学附属青岛眼科医院就诊。患者 1 年前因骨髓异常增生综合征在外院接受异体骨髓干细胞移植术, 术后早期出现脾脏排斥反应, 应用抗排斥药物后病情稳定, 半年前停药。眼科检查: 右眼视力 0.1, 矫正视力 0.2, 眼压 17 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa), 球结膜充血, 角膜上皮粗糙, 晶状体密度增高, 其余未见明显异常; 左眼视力 0.05, 不能矫正, 眼压 T-1, 球结膜明显充血, 角膜中央穿孔, 白色分泌物附着, 角膜基质水肿, KP(-), 前房浅, 前房闪辉(+), 瞳孔欠圆, 晶状体密度增高, 位置前移, 眼内窥不

入(图 1)。左眼溪流试验(+), 角膜刮片未见微生物生长。Schirmer II 试验: 右眼 3 mm/5 min, 左眼 4 mm/5 min。诊断: 左眼角膜穿孔; 双眼干眼(继发性); 慢性移植物抗宿主病(chronic graft-versus-host disease, cGVHD), 入院后使用抗细菌和抗炎滴眼液及人工泪液点眼。2017 年 1 月 14 日行左眼穿透角膜移植术(penetrating keratoplasty, PKP), 术后佩戴角膜绷带镜。病变角膜细菌培养示克氏库克菌生长, 药物敏感性试验示对左氧氟沙星、加替沙星、氧氟沙星、夫西地酸敏感。术后全身应用氢化可的松注射液 150 mg 静脉滴注, 左眼局部应用质量分数 0.5% 左氧氟沙星滴眼液、妥布霉素地塞米松滴眼液和眼